

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 01-227948

(43)Date of publication of application : 12.09.1989

(51)Int.Cl.

G01N 21/64
H01J 37/252

(21)Application number : 63-054278

(71)Applicant : JAPAN SPECTROSCOPIC CO

(22)Date of filing : 08.03.1988

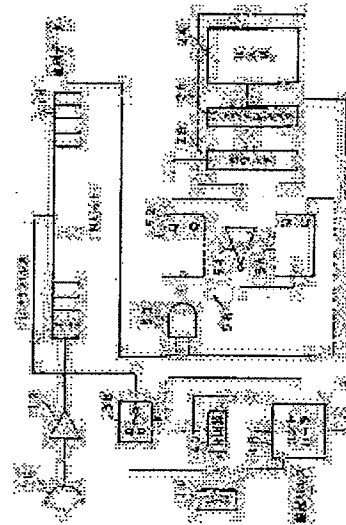
(72)Inventor : IWATA TETSUO

(54) MEASURING INSTRUMENT FOR MULTICHANNEL FLUORESCENT DAMPING WAVEFORM

(57)Abstract:

PURPOSE: To improve the resolving time less than a photoelectronic pulse width by extracting bit data at every regular interval of the continuous plural bit data corresponding to the photoelectronic pulses stored in a shift register as effective bit data.

CONSTITUTION: The font of fluorescence discharged in response to the exciting optical pulse radiated on a sample is converted into photoelectronic pulses by means of a photoelectronic multiplier 10 and the pattern of a photoelectronic pulse train having the information corresponding to the produced time of the font is produced in a shift register 14. A data extracting circuit 58 composed of an AND gate 50, monostable multivibrator 52, inverter 54, and monostable multivibrator 56 is housed in the shift register 14. Of the continuous plural bit data corresponding to the photoelectronic pulses, bit data at every regular interval are extracted as effective bit data. Therefore, even two overlapping photoelectronic pulses can be counted certainly in a separated state.



⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平1-227948

⑤ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成1年(1989)9月12日

G 01 N 21/64
H 01 J 37/252B-7458-2G
Z-7013-5C

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全8頁)

⑭ 発明の名称 マルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置

⑮ 特 願 昭63-54278

⑯ 出 願 昭63(1988)3月8日

⑰ 発 明 者 岩 田 哲 郎 東京都八王子市石川町2967番地の5 日本分光工業株式会
社内

⑱ 出 願 人 日本分光工業株式会社 東京都八王子市石川町2967番地の5

⑲ 代 理 人 弁理士 松本 眞吉

明 細 書

1. 発明の名称

マルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置。

2. 特許請求の範囲

試料へ照射した励起光パルスに反応して、該試料から放出される蛍光のフォトンが光電子パルスに変換し、クロックパルスによりシフトされるシフトレジスタ(14)に該変換された光電子パルスを供給して、該フォトンの発生時刻に対応した情報を有する光電子パルス列のパターンを該シフトレジスタ(14)に作成し、該パターンを読み出して統計的な積算処理を施すことにより蛍光減衰波形を測定するマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置において、

該シフトレジスタ(14)に格納されている、光電子パルスに対応した連続する複数ビットデータのうち、一定間隔毎のビットデータを有効なビットデータとして抽出する有効データ抽出手段(58)

を設けたことを特徴とするマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、試料へ照射した励起光パルスに反応して、該試料から放出される蛍光のフォトンが光電子パルスに変換し、クロックパルスによりシフトされるシフトレジスタに該変換された光電子パルスを供給して、該フォトンの発生時刻に対応した情報を有する光電子パルス列のパターンを該シフトレジスタに作成し、該パターンを読み出して統計的な積算処理を施すことにより蛍光減衰波形を測定するマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置に関する。

〔従来の技術〕

蛍光減衰波形測定手法として、蛍光強度が微弱な場合には、感度、分解時間の観点から単一光子遅延一致法(以下TAC法と略記)が広く用いられている。TAC法は数ピコ秒という分解時間が達成できるものの、その測定原理上、信号利用率が非常に低い。波形歪みなく信号を得るためには、1回の試料励起に対して高々1個のフォトンの発

特開平1-227948(2)

生しか許されず、通常は数十回の励起に対して平均1個のフォトンが発生するような光量にしなければならない。したがって、ある程度“明るい”試料に対しては減光という好ましくない手段を使用しなければならない。

このTAC法に対して、分解時間のある程度犠牲にしても、信号利用率を向上させようというのが光電子パルス列同時検出法である。光電子パルス列同時検出法では、1回の励起に対して複数個のフォトンが発生した場合、それらをすべて計測する。その原理を第3図に示す。(イ)は試料への励起光パルスであり、(ロ)は試料からの光量が非常に強い場合の蛍光減衰波形である。光量が弱くなると、これを光電変換する光電子増倍管からの出力は、フォトン1個1個に対応した光電子パルスになり、そのパルス発生時刻の確率密度関数は、(ロ)の強度に比例したものになる。各励起後の光電子パルス発生状況は毎回異なり、これを(ハ)(ニ)(ホ)(ヘ)に示す。したがって、(ト)に示すように(時間区分された各領域がカ

ウンタに対応し、○は1個のフォトンを示す)、各フォトンの発生時刻に対応するカウンタを用意しておき、光電子パルス1個の発生につき対応するカウンタの内容を1だけ加算すれば、多数回励起による積算を行うことにより、最終的に(ロ)の波形と相似な波形が得られる。この場合の分解時間は、(ト)に示した Δt である。

この原理に基づく最も簡単なマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置を第4図に示す。このマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置では、1回の励起光パルスによる試料励起後の光電子増倍管10からのパルス列をアンプ・ディスクリミネータ12を通して高速動作可能なNビットのシフトレジスタ14に供給し、クロックパルス発生器16からのクロックパルスにより Δt 毎に1ビットシフトされるシフトレジスタ14上にビットパターンを作成し、N Δt 後にタイミングコントローラ18から制御パルスを受けてシフトレジスタ14の内容をバッファレジスタ20に読み出し、バッファレジスタ20の各ビットに対応して設けられ

たカウンタ22によりこのビットデータを計数する。試料励起毎に生じるビットパターンを逐時、カウンタ22に加算していく。この場合の分解時間は、クロックパルス発生器16からのクロックパルスの周期 Δt である。

この構成のマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置は、ビットパターンの積算処理という観点からは理想的であるが、多くのカウンタを要し、またデータ処理のためにカウンタの内容を読み出そうとすると、多くのマルチプレクサや、複雑な配線が必要とする。

本発明者は、分解時間を2倍にし、しかも構成を単純化した第5図に示すマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置を案出し、製作した。2段のフトレジスタ14A、14Bを、クロックパルス発生器16から出力される、位相が180度異なったクロックパルスでそれぞれ Δt 毎に交互にシフトし、光電子パルスのビットパターンをシフトレジスタ14A、14B上に作成する。一方、タイミングコントローラ18による制御の下で、こ

の Δt 毎に、各シフトレジスタ14A、14Bの各ビットに対応するアドレスを有する、RAM24A、24Bの内容をバッファレジスタ26A、26Bを介しカウンタ28A、28Bに逐時読み出しては、シフトレジスタ14A、14Bの最上位ビットから直列に取り出されるビットデータを加算し、当該アドレスにストアする。このような一連の時系列的な処理で蛍光減衰波形のヒストグラムの作成が行えるようにした。

この製作した装置の性能は、分解時間2.5 n sec、測定可能な時間スパン100 n sec、繰り返し周波数25 KHZである。

本発明者は、光電子パルス列同時検出法を実現する他のマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置として、バーニアクロノトロンを利用したものを案出し、製作した。

第6図はバーニアクロノトロンを示しており、伝播遅延時間 τ 、 $\tau + \Delta \tau$ の2本の同軸ケーブル30A、30Bと、波形整形のための2つのリフレッシュアンプ32A、32Bと、2つのパルス

特開平1-227948 (3)

の合致を検出するコインシデンス回路34と、パルスの周回数を数えるスケーラ36で構成されている。その原理は以下のようである。今、時間差 t を有する2つのパルスA、Bをそれぞれ図のように入力すると、各々のパルスは、それぞれ周期 $\tau + \Delta\tau$ と τ でそれぞれの経路を循環する。ここで、パルスBはパルスAよりも $\Delta\tau$ だけ短い周期となるので、パルスBは循環1回につき $\Delta\tau$ だけパルスAに相対的に接近することになる。したがって、パルスBは $t/\Delta\tau$ 回目にパルスAに追いつき、合致が検出される。一方、パルスBの周回数はスケーラ36で計数されており、合致が検出されたときにこの計数を停止する。 $\Delta\tau$ は既知であるので、周回数 n を計数することにより、最初のパルス間隔 t は、 $t = n\Delta\tau$ で求められる。このバーニアクロノトロンは、微分直線性が極めて安定で、分解時間はケーブルの長さの差に比例した $\Delta\tau$ で決定される。

バーニアクロノトロンは2つのパルスの時間差しか測定できない。これをマルチチャンネル化する

一方、分解時間は、シフトレジスタ方式の場合はシフトレジスタへのクロック周波数、バーニアクロノトロンの場合はケーブル長さで決定される。

したがって、前者の場合にはクロック周波数を上げれば、また後者の場合にはケーブル長さを短くすれば、電気系のジッタの程度まで分解時間を向上させることができる筈である。

しかしながら、実際には、光電子増倍管10からの光電子パルスが1.5～3.0 n sec程度の幅を有し、一個のパルスが複数個のチャンネルにわたって計数されるために、分解時間は光電子増倍管10の出力パルス幅程度が下限であると一般に考えられていた。

そこで、本発明者は、この問題を解決したマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置を案出した(昭和63年2月29日付の特許出願)。

これを第8図について説明する。なお、第5図と同一構成要素には同一符号を付して説明を省略する。

コントローラ18は、スイッチ38をクロック

するために、本発明者により案出された第7図に示す構成にすればよい。パルスAとパルス列Bを図のように入力すれば、Aが試料への励起光パルスに同期したパルス、Bが光電子増倍管からの光電子パルス列に対応する。第6図のスケーラ36の代わりに、シフトレジスタ14を用意し、スケーラ36で計数していた周回パルスでシフトレジスタ14のシフト動作をさせ、コインシデンス回路34からの合致検出パルスをシフトレジスタ14への直列データ入力パルスとする。このようにすれば、パルス列Bが同軸ケーブル30Bを循環している間に、このパルス列Bがシフトレジスタ14上のビットパターンに変換される。

試料励起毎に生じるシフトレジスタ14上のビットパターンの処理は、第4図または第5図に示す回路を用いて行うことができ、本発明者は第5図に示す回路を用いたものを製作した。

以上説明したマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置のダイナミックレンジは、アンプ・ディスクリミネータ12のパルス対分解能で制限される。

パルス発生器16側にした後、励起パルスを励起光源(不図示)に供給して試料に励起光パルスを照射する。この励起光パルスは光センサ(不図示)で検出され、この検出信号に同期してクロックパルス発生器16からクロックパルスが発生開始される。コントローラ18はこのクロックパルスを計数する。クロックパルスは、シフトパルスとしてシフトレジスタ14へも供給され、クロックパルスの周期 Δt 、毎にシフトレジスタ14を1ビット第8図右方向にシフトする。試料から放出された蛍光の光子は、光電子増倍管10により光電子パルスに変換され、アンプ・ディスクリミネータ12を通過してシフトレジスタ14へ供給される。したがって、試料励起後、時間 $N\Delta t$ 経過すると、蛍光寿命を示す光電子パルス列のパターンがシフトレジスタ14に作成される。

第9図(A)はアンプ・ディスクリミネータ12から出力される光電子パルス列であり、(B)はこのパルス列によりシフトレジスタ14に作成されたビットパターンである。図中、斜線部は光

特開平1-227948(4)

電子パルスに対応した部分のビットであって、
"1"が格納され、他は"0"が格納されている。

コントローラ18は試料励起パルス出力後、N個のクロックパルスを計数すると、スイッチ38を分周器40側に切り換え、クロックパルス発生器16からのクロックパルスを分周器40で分周したものをシフトパルスとしてシフトレジスタ14へ供給する。すなわち、その後のデータ処理速度との関係から、シフトレジスタ14からの直列データの読み出しを比較的遅く行う。

この直列データは第9図(B)に示す如くなっているが、有効データ抽出回路42を通ると、(E)に示す如く、光電子パルスに対応した連続する複数ビットのうち、最初の1ビットのデータが有効データとして抽出される。

すなわち、(C)に示すパルスがオンディレイ回路46を通ると、(D)に示す如く、分周器40の出力パルスの1周期 Δt に等しい時間だけ立ち上がりが遅れた波形にされ、次いでインバータ48で反転され、アンドゲート44に供給され

て、シフトレジスタ14からのパルスとの論理積がアンドゲート44から出力され、(E)に示す如くなる。オンディレイ回路46は図示の如く抵抗器RおよびコンデンサCからなる積分回路を使用できる。

一方、分周器40からパルスが1個出力される毎に、次のような一連の処理が行なわれる。

すなわち、RAM24のアドレスAのデータD_Aが、バッファレジスタ26を介してカウンタ28へ供給され、アンドゲート44から出力されるビットデータがカウンタ28により計数(ビットデータが"1"のときのみ1を加算)され、次いでバッファレジスタ26を介してRAM24の元のアドレスAに格納される。次いでRAM24のアドレスがインクリメントされる。

このような一連の処理がN回繰り返して行われると、RAM24へのデータ書き込み処理が一旦停止され、スイッチ38がクロックパルス発生器16側へ切り換えられ、上述のシフトレジスタ14への光電子パルス列パターンの作成が行われる。

[発明が解決しようとする課題]

しかしながら、測定時間を短縮するために励起光パルスを強くすると、第10図(A)に示す如く、アンプディスクリミネータ12から出力される複数の光電子パルスがオーバーラップした状態で現れる頻度が多くなり、シフトレジスタ14には(B)に示す如く多数のビットが連続したパターンが形成される。

この場合、第8図に示す装置では、第10図(C)に示す如く最初のビットのみが有効ビットとして42から抽出されるので、時間的に最初の光電子パルスP₁についてのみ、カウントされ、後の光電子パルスP₂についてはカウントされない。したがって、入射蛍光の光量に対しフォトン数の平均計数が比例する該入射光量の範囲、すなわちダイナミックレンジは、アンプ・ディスクリミネータ12のパルス対分解能により制限され、これをさらに拡大することができなかった。

本発明の目的は、上記課題点に鑑み、分解時間を光電子パルス幅以下に向上させることができる

とともに、入射光量に対するダイナミックレンジを拡大できるマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置を提供することにある。

[課題を解決するための手段]

この目的を達成するために、本発明に係るマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置では、試料へ照射した励起光パルスにตอบสนองして、該試料から放出される蛍光のフォトン数を光電子パルスに変換し、クロックパルスによりシフトされるシフトレジスタに該変換された光電子パルスを供給して、該フォトンの発生時刻に対応した情報を有する光電子パルス列のパターンを該シフトレジスタに作成し、該パターンを読み出して統計的な積算処理を施すことにより蛍光減衰波形を測定するマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置において、該シフトレジスタに格納されている、光電子パルスに対応した連続する複数ビットデータのうち、一定間隔毎のビットデータを有効なビットデータとして抽出する有効データ抽出手段を設けたことを特徴としている。

特開平1-227948 (5)

【実施例】

以下、図面に基づいて本発明の実施例を説明する。

第1図にはマルチチャンネル蛍光減衰波形測定装置のブロック回路が示されており、第8図と同一構成要素には同一符号を付して説明を省略する。

スイッチ38の実線図示状態で試料励起後、時間 $N\Delta t$ 経過すると、蛍光寿命を示す光電子パルス列のパターンがシフトレジスタ14に形成されることは上記と同様である。第2図(A)に示す如き光電子パルス P_1 および P_2 がアンプ・ディスクリミネータ12から得られたとき、シフトレジスタ14には(B)に示すパルス列が形成される。

この時間 $N\Delta t$ 経過後、コントローラ18からの指令によりスイッチ38は点線図示状態に切り換えられ、シフトレジスタ14から比較的遅い速度で直列データが読み出される。

この直列データはアンドゲート50の一方の入力端子に供給される。アンドゲート50の他方の入力端子は後述する如く、常時ハイレベルになっ

ており、該直列データはアンドゲート50を通してモノステーブルマルチバイブレータ(以下モノマルチという)52に入力され、これがトリガされる。このモノマルチ52の非安定(オン)時間は、分周器40の出力パルスの1周期 Δt_1 に等しく選ばれている。したがって、モノマルチ52のQ出力は、第2図(C)に示す如く、光電子パルス P_1 に関する最初のビットデータと対応する時間だけオンし、その出力がカウンタ28に供給される。

一方、この出力は、インバータ54を通じてモノマルチ56に供給される。モノマルチ56は、モノマルチ52の出力パルスの立ち下がり(後縁)によってトリガされる。モノマルチ56のQ出力は、(D)に示す如く、常時"1"を出力しており、上記トリガにより出力が"0"になる。この非安定(オフ)時間 Δt_2 は、一個の光電子パルスに対応した連続するビット数を n とすると、 $\Delta t_2 = n\Delta t_1 - \Delta t_1$ に選ばれている。モノマルチ56のこのオフ時間 Δt_2 では、アンドゲート50が閉じて

いるので、シフトレジスタ14からのデータはモノマルチ52に供給されない。

上記オン時間 Δt_1 後、モノマルチ56のQ出力はオンし、アンドゲート50が開かれるので、シフトレジスタ14からのビットデータがモノマルチ52に供給される。このビットデータは、(A)に示す光電子パルス P_1 に関するものである。これにより、モノマルチ52は再びトリガされ、上記の如く時間 Δt_1 だけオンし、この出力がカウンタ28に供給される。モノマルチ52の出力パルスの立ち下がりにより、モノマルチ56が再びトリガされ、アンドゲート50はこれより時間 Δt_2 閉じられた後、再び開かれる。

これらアンドゲート50、モノマルチ52、インバータ54、モノマルチ56をもって、データ抽出回路58が構成されている。

なお、モノマルチ52からカウンタ28への2値データ入力後は、第8図の説明と同様に動作するので省略する。

上記動作により、比較的強い励起光パルスを試

料に照射することにより、オーバーラップした2つの光電子パルス P_1 及び P_2 がシフトレジスタ14に入力され、シフトレジスタ14に連続した"1"のパターンが形成された場合であっても、各光電子パルス P_1 及び P_2 を正確に計数することができる。

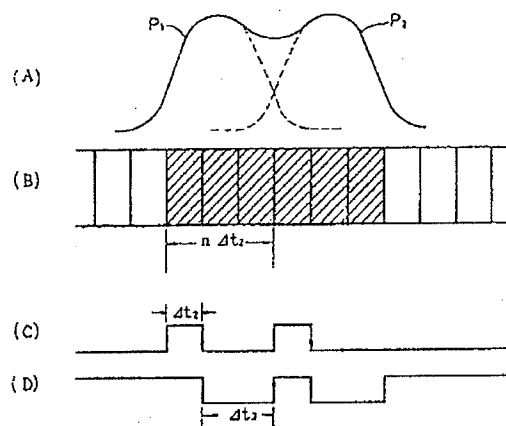
パルス P_1 、 P_2 を識別可能なオーバーラップの程度は、両パルスのピーク間距離が Δt_1 以上である。したがって、 $n=3$ であっても殆どのオーバーラップを分離識別可能であり、ダイナミックレンジを大幅に広げることができる。

また、本実施例装置は第8図に示す装置の機能をも併せて有しており、分解時間が1個の光電子パルスの幅以下に向上する。

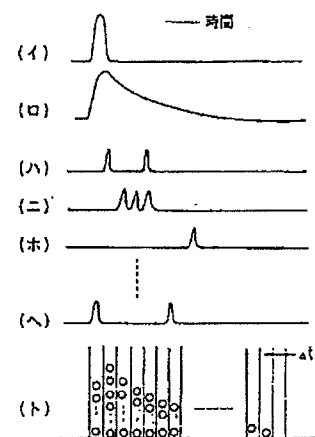
さらに、本実施例装置は3個以上の光電子パルスがオーバーラップしても入力された場合にも各パルスを計数することができる。しかし、正確な計数値を得るようには、最大3個程度になるよう励起光の強さを調整した方が好ましい。

(2) 拡張

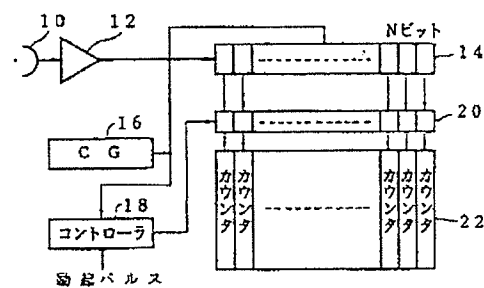
特開平 1-227948 (7)



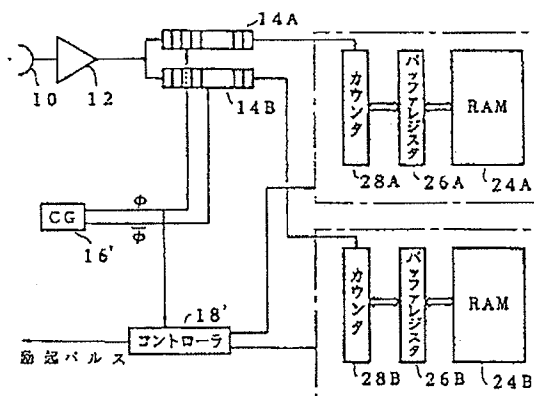
第 2 図



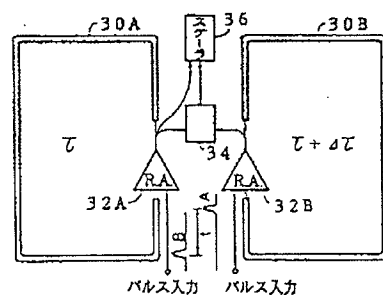
第 3 図



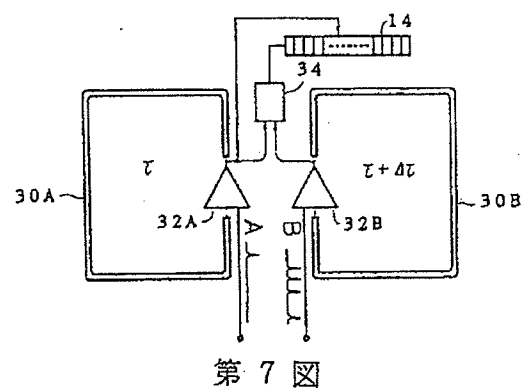
第 4 図



第 5 図

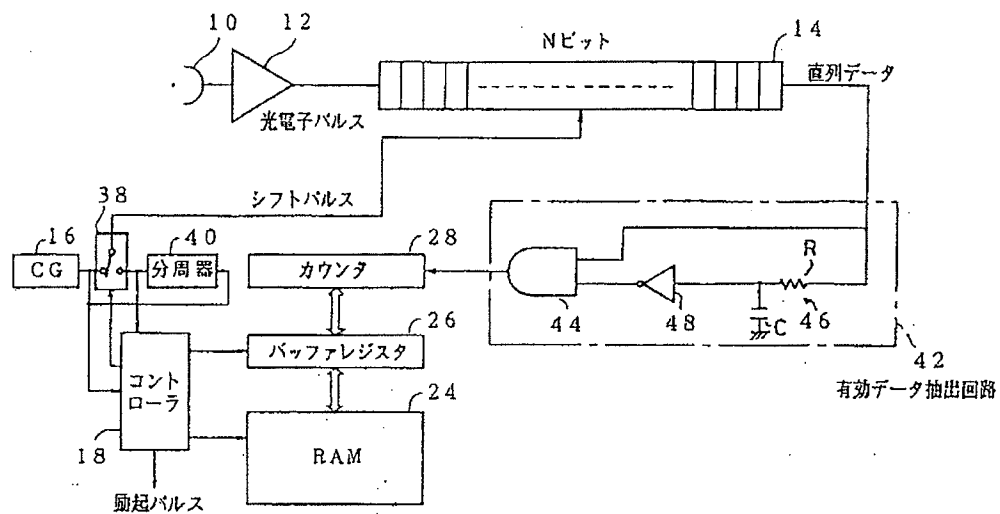


第 6 図

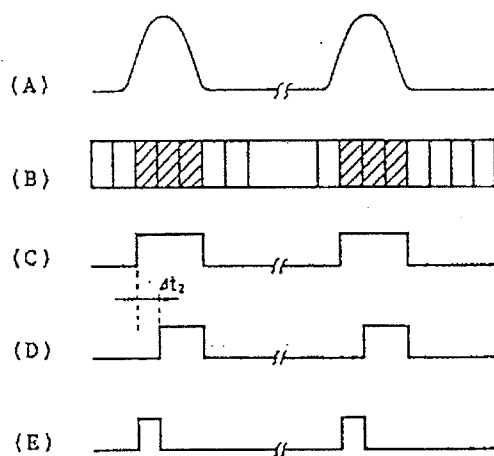


第 7 図

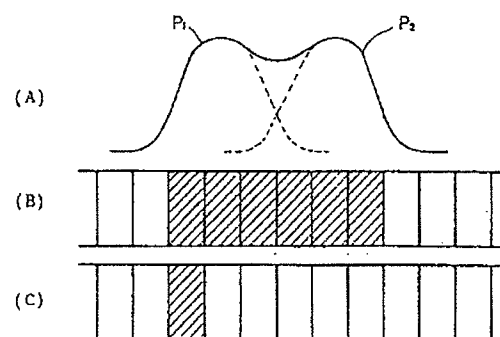
特開平1-227948 (8)



第 8 図



第 9 図



第10図